

Indo. J. Chem. Res., 2017, 5(1), 32-36

IMOBILISASI ENZIM LIPASE DEDAK PADI (*Oryza Sativa L.*) PADA KARBON AKTIF: KARAKTERISASI, DAN UJI STABILITAS KERJA ENZIM IMOBIL**Immobilization of Lipase Enzyme From The Bran Rice (*Oryza Sativa L.*) on Activated Carbon: Characterization and Stability Test Of Immobile Enzyme Work****Firdaus¹, Seniwati Dali¹, Hendra J. Rusman^{1*}**¹*Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Hasanuddin University
Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10, Tamalanrea, Makassar, 90245 - Indonesia***Corresponding Author, e-mail: hendrarusmanlipase@gmail.com*

Received: June 2017 Published: July 2017

ABSTRACT

This research aims to immobilize, characterize the enzyme of immobilized, test the effectiveness of the enzyme of immobilized. This research begins with the immobilization to process of enzyme lipase using activated carbon matrix, enzyme characterization covering of immobile determination of temperature and pH optimum of the enzyme of immobilized, as well as test the stability of work covering immobilized of enzyme the test thermal stability and repeated use. The results showed that the immobile of enzyme work optimally at 50°C of temperature and pH 6.5 with each activity 0.040 U/mL. The research results also showed that the immobile of enzyme has higher thermal stability in comparison with the free enzyme with the relative activity of 57.50% at the time of 45 minutes of exposure and the exposure time at 47.50% at 75-105 minutes and it can be used as many as six times with the relative activity of 52.5% in 6 times of use.

Keywords: Rice bran (*Oryza Sativa L.*), lipase of enzymes, immobilization, activated carbon, characterization

PENDAHULUAN

Penggunaan enzim lipase di bidang bioteknologi semakin berkembang pesat. Oleh karena itu, banyak industri pangan dan non-pangan yang telah memanfaatkan kerja enzim lipase sebagai biokatalisator di dalam memodifikasi minyak dan lemak (Yuneta dan Saputra, 2010). Enzim lipase dapat diisolasi dari mikroba, tumbuhan dan hewan. Salah satu jenis enzim lipase terdapat di dalam tumbuhan yang dapat diisolasi dan dimanfaatkan adalah enzim lipase dedak padi (Dharsono dan Oktari, 2010, Christianisari *et.al.*, 2014, Fitriyana dkk., 2012). Namun, enzim lipase yang telah diisolasi biasanya masih dalam bentuk terlarut sehingga tidak stabil terhadap pengaruh lingkungan. Ini menyebabkan enzim terlarut tidak dapat digunakan secara berulang-ulang; sehingga

tidak ekonomis di dalam penggunaannya sebagai biokatalisator. Untuk mengatasi kelemahan tersebut, dilakukan imobilisasi enzim secara adsorpsi menggunakan karbon aktif sebagai material pendukung (*carrier*). Metode adsorpsi umumnya merupakan metode imobilisasi enzim lipase yang sederhana dan memiliki kelebihan yakni: (1) proses pengikatan enzim dan carrier lebih cepat, (2) tidak membentuk ikatan silang sehingga tidak memungkinkan untuk terjadinya perubahan konformasi struktur enzim, dan (3) tidak menunjukkan penurunan aktivitas enzim yang signifikan terhadap pengaruh suhu dan pH (Dali, 2010). Pemanfaatan enzim imobil dalam skala industri umumnya memerlukan aktivitas yang maksimum sehingga tidak diperlukan lagi enzim dalam jumlah banyak untuk dapat bekerja secara maksimal sebagai

biokatalisator. Oleh karena itu, perlu dilakukan karakterisasi enzim imobil yang meliputi penentuan suhu dan pH optimum; selain itu, perlu dilakukan uji stabilitas kerja enzim imobil yang meliputi uji stabilitas termal dan uji stabilitas enzim imobil terhadap penggunaan berulang.

METODOLOGI

Bahan

Bahan yang digunakan yaitu: Enzim lipase dedak padi (*Oryza Sativa L.*), karbon aktif, minyak zaitun, asam oleat p.a (merck), n-heksana p.a (merck), HCl 6 N, buffer fosfat, aquades, aquabides, reagen Cu(II) asetat (5%)-Piridin pH 6.

Alat

Alat yang digunakan yaitu: spektrofotometer 20 D⁺ (Genesys), sentrifuge (Hettic Universal 320R), neraca analitik (Acculab), oven, blender, *hot plate stirrer* (Vella), *shaker incubator* (BL Barnstead/Lab-line Max Q 4000), mikropipet, neraca lengan (Ohaus), batang pengaduk, pH meter, *magnetig styrrer* (VWR scientific), Gelas ukur, gelas kimia, erlenmeyer, tabung reaksi, pipet volume, dan pipet tetes.

Prosedur Kerja

Imobilisasi Enzim Lipase

Sebanyak 7,5 mL enzim lipase dedak padi (*Oryza Sativa L.*) ditambahkan dengan 7,5 mL buffer fosfat pH 6,5 dan 5 gram karbon aktif kemudian di shaker selama 30 menit dengan kecepatan 150 rpm pada suhu kamar. Selanjutnya disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 1000 rpm.

Penentuan Aktivitas Lipase Imobil

Penentuan aktivitas lipase dilakukan dengan menggunakan metode Kwon dan Rhee sebagai berikut: Sebanyak 0,70 mL enzim bebas ditambahkan 0,35 mL buffer fosfat pH 6,5 dan substrat minyak zaitun sebanyak 0,70 mL. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu 45°C dengan kecepatan 120 rpm selama 15 menit. Setelah proses inkubasi, ditambahkan 0,5 mL HCl 6 N dan 3,25 mL n-heksana dan dikocok dengan kuat lalu didiamkan selama 15 menit. Setelah terbentuk dua fase, fase minyak diambil sebanyak 2,50 mL dan

ditambahkan n-heksana sebanyak 1,25 mL; kemudian ditambahkan 0,5 mL reagen tembaga (II) asetat 5% pH 6 lalu dikocok dengan kuat. Fase atas diambil sebanyak 3,20 mL dan ditentukan nilai absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer 20 D⁺ pada panjang gelombang 615 nm.

Penentuan suhu Optimum

Penentuan suhu optimum dilakukan dengan menguji aktivitas enzim lipase yang telah diimobilisasi menggunakan metode Kwon dan Rhee pada suhu yang bervariasi (yaitu: 30; 35; 40; 45; 50; 55; 60; 65; dan 70) °C.

Penentuan pH Optimum

Penentuan pH optimum dilakukan dengan menguji aktivitas enzim lipase menggunakan metode Kwon dan Rhee pada pH yang bervariasi (yaitu: 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5; dan 8,0).

Uji Stabilitas termal enzim imobil

Uji stabilitas termal enzim imobil dilakukan dengan menguji aktivitas enzim lipase menggunakan metode Kwon dan Rhee pada waktu paparan yang bervariasi (yaitu: 15, 45, 75, 105 dan 135) menit.

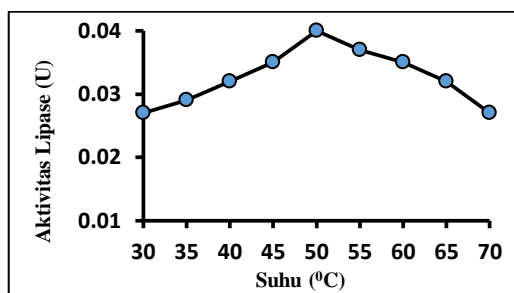
Uji Stabilitas enzim imobil terhadap penggunaan berulang

Uji stabilitas enzim imobil terhadap penggunaan berulang adalah sebagai berikut: sebanyak 1 g enzim imobil ditambahkan 5 mL buffer fosfat pH 6,5 dan 5 mL substrat minyak zaitun; kemudian campuran tersebut diinkubasi pada waktu 15 menit pada suhu 50°C dengan kecepatan 250 rpm; selanjutnya campuran tersebut disentrifugasi pada kecepatan 1000 rpm selama 5 menit. Produk yang dihasilkan diuji aktivitas enzimnya dengan menggunakan metode Kwon dan Rhee pada panjang gelombang 615 nm, sedangkan enzim imobil dicuci dengan 20 mL buffer fosfat pH 6,5, disaring, dan dikeringkan di dalam oven pada suhu 40°C selama 30 menit; selanjutnya, enzim imobil yang telah kering digunakan untuk penentuan aktivitas enzim lipase berikutnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Suhu Optimum

Penentuan suhu optimum dilakukan untuk mengetahui suhu optimal kerja enzim imobil. Peningkatan suhu berpengaruh pada peningkatan aktivitas enzim lipase imobil. Ini disebabkan oleh meningkatnya intensitas tumbukan antara enzim imobil dengan substrat minyak zaitun. Pada saat suhu ditingkatkan, aktivitas enzim akan mengalami penurunan yang disebabkan oleh proses denaturasi enzim. Kestabilan enzim imobil terhadap pengaruh suhu tergantung pada kesesuaian matriks dengan enzim dan kandungan gugus-gugus hidrofobik pada asam amino penyusun enzim. Kandungan gugus-gugus hidrofobik menyebabkan molekul enzim membentuk konformasi struktur lebih rapat di dalam larutan dan mudah untuk terikat secara fisik dengan matriks karbon aktif; dengan demikian, matriks karbon aktif akan melindungi enzim dari putusanya ikatan fisik akibat pemanasan (Christianasari dkk., 2014). Dalam penelitian ini, suhu divariasikan mulai dari (30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70)°C; Hasil penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



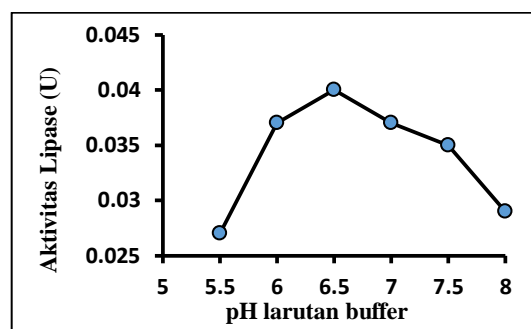
Gambar 1 Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim imobil

Berdasarkan hasil penelitian, enzim lipase imobil bekerja secara optimal pada suhu 50°C dengan aktivitas lipase sebesar 0,040 U.

Penentuan pH Optimum

Penentuan pH optimum dilakukan untuk mengetahui pH optimal kerja enzim imobil. Dalam penelitian ini, buffer yang digunakan adalah buffer fosfat dan pH divariasikan mulai

dari 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5 dan 8,0. Hasil penelitian dapat dilihat dari Gambar 2.

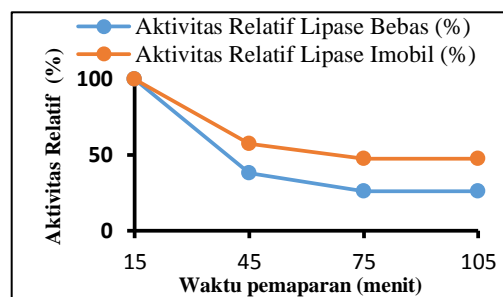


Gambar 2 Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim imobil

Berdasarkan hasil penelitian, enzim lipase murni dan enzim lipase imobil bekerja secara optimal pada pH 6,5 dengan aktivitas dan 0,040 U. Ini menunjukkan bahwa perubahan pH berpengaruh pada perubahan konformasi struktur enzim di dalam matriks akibat pembentukan atau pemutusan interaksi ionik terutama pada bagian enzim yang mengandung $R-NH_3^+$ dan $R-COO^-$ akibat pengaruh lingkungan yang asam atau basa. Hal ini disebabkan karena setiap enzim memiliki pH optimum yang berbeda-beda sehingga pH yang jauh dari kondisi optimum akan menyebabkan enzim mengalami denaturasi (Bintang dkk., 2015).

Uji Stabilitas Termal Enzim Imobil

Uji stabilitas termal dilakukan untuk mengetahui kestabilan konformasi struktur enzim terhadap waktu pemanasan dan perubahan kondisi lingkungan akibat proses reaksi yang dapat mengakibatkan terjadinya proses denaturasi enzim secara perlahan (Murty et al., 2002).



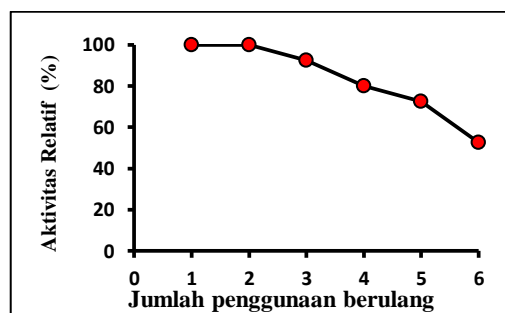
Gambar 3 Hasil uji stabilitas termal enzim imobil

Dalam penelitian ini, digunakan kondisi optimum reaksi enzim bebas dan enzim imobil dengan waktu yang bervariasi mulai dari (15, 45, 75, dan 105) menit. Hasil penelitian dapat dilihat pada Gambar 3 dan Tabel 1.

Tabel 1 Perbandingan aktivitas enzim bebas dan enzim imobil

Waktu (menit)	Aktivitas Lipase Bebas (U/mL)	Aktivitas Lipase Imobil (U)
15	0.050	0.040
45	0.019	0.023
75	0.013	0.019
105	0.013	0.019

Berdasarkan Tabel 1, aktivitas enzim lipase bebas mengalami penurunan dalam selang waktu 45 menit dengan aktivitas relatif sebesar 38% dan relatif konstan pada selang waktu 75-105 menit dengan aktivitas relatif sebesar 26%, sedangkan aktivitas enzim imobil mengalami penurunan dalam selang waktu 45 menit dengan aktivitas relatif sebesar 57,50% dan relatif konstan pada selang waktu 75-105 menit dengan aktivitas relatif sebesar 47,50%. Ini menunjukkan imobilisasi enzim menggunakan matriks karbon aktif mampu meningkatkan stabilitas enzim terhadap waktu pemanasan dan perubahan kondisi lingkungan akibat proses reaksi.



Gambar 4 Uji Stabilitas enzim imobil terhadap penggunaan berulang.

Uji Kestabilan Enzim Imobil Terhadap Penggunaan Berulang

Uji Stabilitas enzim imobil terhadap penggunaan berulang dilakukan untuk mengetahui efektifitas operasional enzim lipase dedak padi yang diimobilisasi menggunakan matriks karbon aktif di dalam penelitian ini, enzim imobil digunakan sebanyak lima kali. Hasil penelitian dapat dilihat pada Gambar 4 dan Tabel 2.

Tabel 2 Aktivitas enzim imobil pada penggunaan berulang

Penggunaan Enzim Imobil	Aktivitas Lipase (U)
1	0.04
2	0.04
3	0.037
4	0.032
5	0.029
6	0.021

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 2, enzim imobil sangat efektif hingga dua kali penggunaan dengan aktivitas relatif 100% dan aktivitas lipase sebesar 0,040 U, pada penggunaan ketiga, keempat, kelima, dan keenam, aktivitas enzim mengalami penurunan yaitu 92,5%, 80%, 72,5% dan 52,5% yang disebabkan karena terlepasnya ikatan *Van Der Waals* antara gugus-gugus hidrofobik enzim dengan matriks karbon aktif (Dali, 2010). Ini menunjukkan bahwa enzim lipase dedak padi yang diimobilisasi dengan menggunakan matriks karbon aktif efektif untuk digunakan dalam skala industri.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Enzim lipase imobil memiliki suhu optimum 50°C dan pH optimum 6,5 dengan aktivitas lipase sebesar 0,040 U.
2. Enzim lipase imobil memiliki stabilitas termal yang lebih tinggi dari enzim bebas yakni dengan memiliki aktivitas relatif sebesar 57,50% pada waktu pemaparan 45 menit dan 47,50% pada waktu pemaparan 75-105 menit.

3. Enzim lipase imobil dapat digunakan sebanyak 6 kali dengan aktivitas relatif sebesar 52,5% pada 6 kali penggunaan.

DAFTAR PUSTAKA

- Bintang M; Panji T; Saadah S, 2015, Imobilisasi Lipase *Rhizopus oryzae* pada Zeolit, CaCO₃, Silika Gel, dan Tulang Sapi, *Current Biochemistry*, Volume 2 (2): 54 – 63, ISSN: 2355-7877.
- Christianasari R; Widi R.K; Halim B.A; Purwanto M. G.M., 2014, Imobilisasi Enzim Lipase Pada Ca-Bentonit Serta Aplikasinya Pada Produksi Asam Lemak Omega-3 Pada Limbah Minyak Ikan, *Seminar Nasional Bioteknologi 2014, Biotechnological Approaches to Blue Economy Implementation*.
- Dharsono W; Oktari Y.S, 2010, *Pembuatan Biodiesel Dari Dedak Padi dan Metanol Dengan Esterifikasi In Situ*, Skripsi Tidak Diterbitkan, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Fitriyana L.A., Soeprodjo, Kardawati S., 2012, Produksi Biodiesel Dari Dedak Padi (Rice Bran) Melalui Dua Tahap Reaksi *In-situ*, *Indn. J. Chem. Sci* 1(2), ISSN: 2252-6951.
- Murty V.R; Bhat J; Muniswaran P.K.A, 2002, Hydrolysis of Rice Bran Oil Using Immobilized Lipase in a Stirred Batch Reactor, *Biotechnol, Bioprocess Eng.* 7: 367-370.
- Dali S., 2010, *Studi Enzim Lipase Dari Aspergillus Oryzae Pada Kopra Berjamur dan Pemanfaatannya Dalam Menghidrolisis Minyak Kelapa Menjadi DAG*, Disertasi, Universitas Hassanudin, Makassar.
- Yuneta R; Saputra S.R, 2010, Pengaruh Suhu Pada Lipase Dari Bakteri *Bacillus Subtilis*, *Prosiding Kimia FMIPA, Institut Teknologi Sepuluh November, Surabaya*.